

**AKTIVITAS ANTIVIRUS EKSTRAK ETANOL DAUN BANDOTAN
(*Ageratum conyzoides* L.) TERHADAP VIRUS NEWCASTLE DISEASE
BESERTA PROFIL KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS**

Egi Laila Solichati, Anjar Mahardian Kusuma, Diniatik

*Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Purwokerto, Jl. Raya Dukuhwaluh,
PO Box 202, Purwokerto 53182*

ABSTRAK

Virus merupakan parasit berukuran mikroskopik, menginfeksi sel organisme biologis, dan hanya dapat bereproduksi dalam material hidup. Daun Bandotan (*Ageratum conyzoides* L.), pada umumnya digunakan untuk mengobati demam, menghilangkan pembengkakan dan sakit tenggorokan. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui ada tidaknya aktivitas antivirus dari ekstrak etanol daun bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) terhadap virus *Newcastle Disease* beserta profil kromatografi lapis tipisnya. Ekstrak dibuat dengan cara maserasi menggunakan cairan penyari etanol 96 %. Penelitian ini dilakukan secara *in Ovo* yaitu dengan menggunakan telur ayam berembrio umur 9 – 11 hari. Pengamatan penghambatan virus digunakan uji hemaglutinasi (HA). Penelitian ini dianalisis dengan Uji Anava. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun bandotan mampu menghambat pertumbuhan virus *Newcastle Disease*. Konsentrasi yang digunakan adalah 1, 10 dan 100 µg/ml, dengan hambatan tertinggi 99.48 ± 0.23 % dan terendah 50.00 ± 0 %. Aktivitas antivirus ekstrak etanol daun bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) terhadap virus *Newcastle Disease* mempunyai perbedaan yang bermakna antara ketiga konsentrasi ($P < 0,05$). Ekstrak etanol daun bandotan memiliki kandungan senyawa kimia yaitu flavonoid, steroid, eugenol, dan saponin.

Kata kunci: antivirus, ekstrak etanol, daun bandotan, virus *Newcastle Disease* (ND), kromatografi lapis tipis.

ABSTRACT

*Virus is the microscopic parasite which infect the organism cell, and only proliferate in material life. The bandotan leaf (*Ageratum conyzoides* L.) using to cure of fever disappear of swollen, and throat of ill. The purpose of this research is to know that there is antiviral activity from the ethanol extract of bandotan leaf (*Ageratum conyzoides* L.) into Newcastle Disease virus with thin layer*

*chromatography profile. The extract made by the maceration method with using the ethanol 96%. This research did conducting in Ovo, there is chicken's egg embryo with the age 9-11 days. The inspection of hindrance virus is used for hemagglutination test (HA test). This research analyze with the anava test. The resulting of research indicates that the ethanol extract of bandotan leaf can delay the growth Newcastle Disease virus. The concentration are used about 1, 10, 100µg/ml, with the highest obstacle 99.48±0.23 % and the lowest 50.00±0 the activity of antiviral ethanol extract bandotan leaf (*Ageratum conyzoides* L.) to Newcastle Disease virus has the different meaning between third concentration ($P<0.05$). Ethanol extract of bandotan leaf contain of chemical compound like flavonoid, steroid, eugenol, and saponin.*

Keyword: antiviral, ethanol extract, bandotan leaf, Newcastle Disease virus (ND), thin layer chromatography.

Pendahuluan

Tanaman bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) merupakan tanaman obat tradisional yang telah sering digunakan oleh masyarakat sebagai stimulan, tonik, pereda demam (antipiretik), antitoksik, menghilangkan pembengkakan, menghentikan perdarahan (hemostatis), peluruh haid (emenagog), peluruh kencing (diuretik), dan peluruh kentut (karminatif). Tanaman bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) termasuk dalam famili Asteraceae yang mudah ditemukan di ladang, kebun, pekarangan rumah, maupun pinggir jalan. Tanaman ini mudah tumbuh dan sering dianggap belukar. Tanaman ini mengandung senyawa minyak atsiri, turunan terpen, asam amino, kumarin, tanin, sulfur,

glikosida, dan kalium klorida (Dalimarta, 2000).

Wijayanti (2007) melaporkan bahwa ekstrak gubal daun bandotan (*A. conyzoides*) bersifat sitotoksik terhadap sel myeloma dengan LC50 20,707µg/ml. Penelitian yang dilakukan oleh Rosida (2006) melaporkan perbedaan yang tidak bermakna secara statistik yang berarti bahwa aktivitas ekstrak kloroform dan ekstrak etanol daun bandotan (*A. conyzoides*) terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III mempunyai potensi yang sama.

Penelitian oleh Achuwa (2006) melaporkan bahwa ekstrak kloroform daun bandotan (*A. conyzoides*) mampu menghambat pertumbuhan virus *Newcastle Disease*, dengan berbagai konsentrasi yang menunjukkan bahwa

semakin tinggi konsentrasi semakin besar pula penghambatan terhadap pertumbuhan virus, dengan hambatan tertinggi 80,30 % dan terendah 31,37% dan harga IC50 yang diperoleh sebesar 0,04479% atau 447,9µg/ml. Kloroform adalah penyari yang relatif nonpolar, sehingga kandungan aktif yang terlarut adalah senyawa yang relatif nonpolar. Pada penelitian ini ingin lebih diketahui efek antivirus daun bandotan (*A. conyzoides*) dengan penyari yang berbeda yaitu etanol yang mampu menyari senyawa dari yang relatif polar hingga senyawa yang relatif nonpolar.

Metode Penelitian

Bahan: Bahan yang digunakan adalah daun bandotan (*A. conyzoides*) diambil dari grumbul Banaran, Kecamatan Arcawinangun, Purwokerto; untuk uji aktivitas antivirus digunakan telur ayam berembrio yang berumur 9 – 11 hari, virus *New-castle Disease* dari vaksin Medivac ND La Sota termasuk vaksin aktif; bahan kimia yang digunakan adalah aquadest, etanol 96 % teknis (Bra-tacem), Etanol 70 % teknis (Brataco chemical), eter (Brataco chemical), antibiotik ampicillin dan streptomisin, PBS (*Phosphate Buffer*

Saline) (Sigma), eritrosit ayam, parafin cair (E.Merck), betadine (E.Merck), silica gel, selulosa.

Alat: Alat-alat yang digunakan adalah alat-alat gelas (Pyrex), mesin penyerbuk, pengayak, LAF (*Laminar Air Flow*), sendok pengaduk, maserator (toples), timbangan analitik, bor pelubang, pensil, pinset tajam, nampan telur, lemari es, spuit 1 mL dan 5 mL, inkubator (Nuaire™ IR autoflow), lampu teropong telur, tabung reaksi (pyrex), mikropipet (Gilson), lampu spiritus, diluter (Gilson), oven, autoclave (Nebauer), bejana KLT, pipa kapiler, alat penyemprot bercak, lampu UV, vorteks (Genie), flakon, bejana KLT, Lempeng selulosa (Merck), lempeng silica gel F₂₅₄ (Merck), *96 well plate*, evendop, kolom kromatografi.

Cara Kerja

Pembuatan Ekstrak Etanol daun bandotan

Daun segar dari tanaman bandotan yang dibersihkan lalu diangin-anginkan dan dikeringkan dalam almari pengering dengan suhu 60°C sampai daun mudah untuk dihancurkan ketika diremas. Simplisia daun Bandotan yang diperoleh, diserbuk menggunakan blender. Menggunakan ayakan mesh

20/40. Serbuk sebanyak 200 g diekstraksi dengan teknik maserasi menggunakan pelarut (solvent) etanol 96%. Ekstraksi dilakukan selama 2 x 24 jam. Menggunakan perbandingan penyari dengan simplisia (1:10) untuk hari pertama, saring dengan kain penyaring selanjutnya ampas diekstraksi kembali dengan penyari etanol 96% (1:4) untuk hari kedua. Maserat diuapkan penyarinya hingga diperoleh ekstrak kental daun bandotan. Ekstrak yang diperoleh digunakan untuk melakukan uji aktivitas terhadap virus *Newcastle Disease*.

2. Uji aktivitas antivirus ekstrak daun bandotan terhadap virus *Newcastle Disease*.

Uji ini dibagi dalam 4 kelompok perlakuan pada semua ekstrak, masing – masing kelompok terdiri dari 3 telur ayam berembrio. Pada uji ini membutuhkan virus *Newcastle Disease* sebanyak 0,5 ml yang diinokulasikan pada telur ayam berembrio. Virus *Newcastle Disease* didapat dengan cara melakukan pengenceran. 1 vial vaksin virus *Newcastle Disease* mengandung 1000 dosis virus *Newcastle Disease* yang diencerkan dengan PBS sebanyak 5 ml,

sehingga 1 ml mengandung 200 dosis virus *Newcastle Disease*. 200 dosis virus diencerkan lagi dengan PBS sebanyak 10 ml, sehingga 1 ml mengandung 20 dosis virus *Newcastle Disease*. 1 dosis virus mengandung 10 virus *Newcastle Disease*. Sehingga sebanyak 0,5 ml virus *Newcastle Disease* mengandung 10 dosis (mengandung 100 virus *Newcastle Disease*). Kelompok 1 :Diberi ekstrak daun bandotan 1 µg/ ml dan virus *Newcastle Disease* sebanyak 1 dosis (0,5 ml PBS + 0,5 ml virus *Newcastle Disease*). Kelompok 2 : Diberi ekstrak daun bandotan 10 µg/ ml dan virus *Newcastle Disease* sebanyak 1 dosis (0,5 ml PBS + 0,5 ml virus *Newcastle Disease*). Kelompok 3 : Diberi ekstrak daun bandotan 100 µg/ ml dan virus *Newcastle Disease* sebanyak 1 dosis (0,5 ml PBS + 0,5 ml virus *Newcastle Disease*). Kelompok 4 : Diberi virus *Newcastle Disease* sebanyak 1 dosis (0,5 ml PBS + 0,5 ml virus *Newcastle Disease*).

Alat – alat gelas dan alat untuk inokulasi yang akan digunakan dicuci bersih Kemudian dibungkus lalu disterilkan menggunakan oven dengan suhu 170°C selama 1 jam untuk alat – alat gelas yang tahan pemanasan tinggi,

dan autoklaf pada suhu 120°C selama 20 menit untuk alat – alat yang tidak tahan terhadap pemanasan tinggi.

Aktivitas antivirus dilihat dengan melakukan uji hemaglutinasi (*HA Test*) Uji hemaglutinasi dilakukan dengan menggunakan mikrotiter dengan dasar “U” mempunyai 96 sumuran. Mengisi lubang sumuran dengan PBS (*Phosphat Buffer Saline*) sebanyak 0,5 ml mulai dari lubang sumuran 1-12 pada baris A sampai D, lubang mikrotiter pada baris D digunakan sebagai kontrol virus. Lubang sumuran 1 pada baris A sampai C diisi dengan cairan alantois pada masing – masing seri konsentrasi sebanyak 0,5 ml dari telur ayam berembrio yang telah mengandung ekstrak etanol daun bandotan dan virus *Newcastle Disease*, dan pada baris D diisi dengan cairan alantois telur ayam berembrio yang tidak diberi ekstrak (kontrol virus). Lakukan pencampuran menggunakan mikrotiter masing – masing konsentrasi dengan cara digoyang selama 12 putaran dimulai dari lubang 1 sampai 12. Tambahkan sebanyak 0,5 ml eritrosit ayam 0,5% pada lubang 1 baris A sampai D, mikrotiter tersebut dibiarkan pada suhu kamar selama 15-

20 menit. Pembacaan uji hemaglutinasi dengan melihat terjadinya endapan eritrosit ayam, apabila tidak terjadi endapan seperti pada lubang kontrol negatif (kontrol virus) dinyatakan negatif HA.

Perhitungan hemaglutinasi dilakukan dengan cara menghitung lubang yang positif adanya endapan eritrosit ayam pada dasar sumuran dimulai dari enceran yang paling pekat (lubang 1). Hemaglutinasi yang ada pada sumuran plat mikro dihitung persentase penghambatannya. Perhitungan persentase penghambatan oleh ekstrak daun Bandotan (*A. conyzoides*) yang digunakan, menggunakan rumus :

$$P = \frac{[A - B]}{A} \times 100\%$$

Dimana :

P = Persentase penghambat infeksi

A = Jumlah titer pada telur ayam berembrio tanpa perlakuan ekstrak etanol daun

Bandotan.

B = Jumlah titer pada telur ayam berembrio dengan perlakuan ekstrak etanol daun Bandotan.

Data persentase hambatan antiviral dapat dianalisa secara statistik menggunakan SPSS. Analisis data menggunakan uji Anava satu arah, untuk mengetahui perbedaan hasil perhitungan dari masing – masing konsentrasi. Kemudian dilanjutkan dengan uji BNT untuk mengetahui signifikasi masing – masing konsentrasi ekstrak etanol daun bandotan (*A. conyzoides*) dengan taraf kepercayaan 95%.

3. Identifikasi Golongan Senyawa ekstrak etanol daun bandotan

Ekstrak etanol daun bandotan ditotolkan dengan pipa kapiler pada lempeng kromatografi lapis tipis silica gel F₂₅₄ dan lempeng selulosa dengan ukuran 2 x 10 cm dan jarak elusi 8 cm. Lempeng sebelumnya telah dipanaskan pada oven dengan suhu 110°C selama 30 menit. Lempeng kemudian dimasukkan dalam bejana berisi fase gerak yang sebelumnya telah dijenuhkan dengan cara ditutup dengan kaca dan diolesi dengan vaselin. Elusi dilakukan sampai tanda batas elusi. Kemudian dikeluarkan, dikering anginkan dan hasilnya diidentifikasi. Identifikasi masing – masing dengan menggunakan pengamatan pada lampu

UV 254 nm dan 366 nm. Selanjutnya dilakukan perhitungan harga R_f dari masing – masing bercak, kemudian diidentifikasi golongan senyawa yang terkandung di dalamnya.

Identifikasi golongan senyawa kimia dari profil kromatografi hasil KLT dilakukan dengan cara memberikan pereaksi penampak bercak untuk masing – masing golongan senyawa. Hasilnya diidentifikasi dengan melihat warna bercak, baik dengan sinar ataupun dengan sinar UV 366 nm. Reaksi positif ditunjukkan dengan warna.

Hasil dan Pembahasan

Hasil ekstraksi simplisia daun bandotan sebanyak 200 g menggunakan metode maserasi berulang dengan penyari etanol 96 % diperoleh ekstrak kental sebanyak 10,2 g. etanol 96% digunakan sebagai penyari karena lebih selektif, tidak beracun, netral, absorpsi baik, dapat mencegah pertumbuhan kapang dan kuman, panas yang diperlukan untuk pemekatan lebih sedikit sehingga meminimalkan resiko degradasi senyawa aktif akibat pemanasan.

Tabel 1. Jumlah virus *Newcasatle Desease* pada cairan alantois

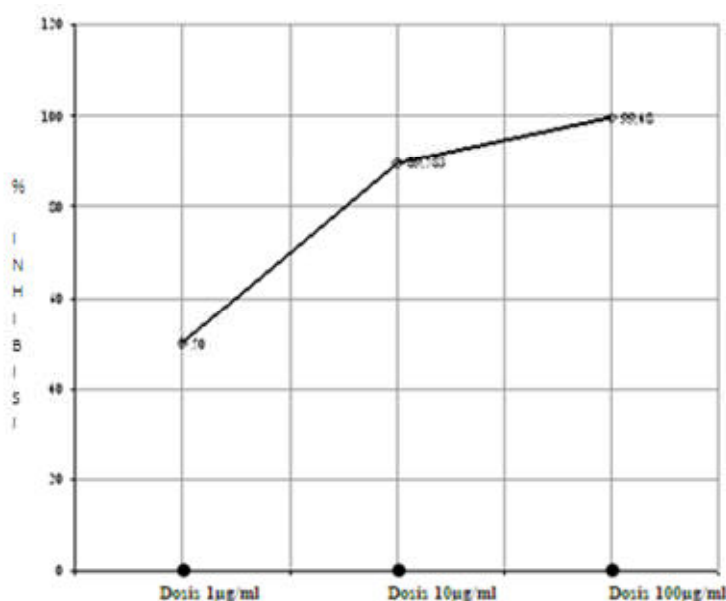
| Replikasi | Perlakuan | | | Kontrol virus |
|-----------|----------------|-----------------|------------------|---------------|
| | Ekstrak 1µg/ml | Ekstrak 10µg/ml | Ekstrak 100µg/ml | |
| I | $2^7 = 128$ | $2^5 = 32$ | $2^1 = 2$ | $2^8 = 256$ |
| II | $2^8 = 256$ | $2^6 = 64$ | $2^1 = 2$ | $2^9 = 512$ |
| III | $2^8 = 256$ | $2^5 = 32$ | $2^1 = 2$ | $2^9 = 512$ |

Ekstrak tersebut kemudian di buat tiga seri konsentrasi (1, 10 dan 100 µg/ ml) yang kemudian disuntikan pada cairan alantois telur berembrio dan diinkubasi selama 2 hari. telur ayam berembrio mempunyai kelebihan yaitu mudah didapat, murah, dan mudah dikerjakan di laboratorium. Kelebihan yang lain yaitu dalam telur ayam berembrio tercipta lingkungan yang tertutup dan terlindung oleh cangkang telur, mudah dipegang dan terpelihara selama inkubasi dalam laboratorium. Telur ayam berembrio mempunyai 4 tempat yang digunakan sebagai inokulasi virus, yaitu kantong merah telur, ruang anionik, membran korioalantois, dan ruang alantois (Capuccino and Natalie, 1983). Pada penelitian ini menggunakan ruang

alantois karena ruang alantois berisi cairan alantois yang selalu diproduksi seiring dengan pertumbuhan embrio (Burleson *et. al*, 1992).

Cairan alantois telur tersebut digunakan untuk *HA Test*. *HA test* dapat digunakan untuk mendeteksi virus yang memiliki hemaglutinin. Adanya hemaglutinin akan dapat mengaglutinasi eritrosit dari beberapa spesies unggas, mamalia maupun manusia (Dewi, dkk., 2007).

Hasil *HA Test* (table 2) menunjukkan bahwa ekstrak etanol mulai menunjukkan hambatan terhadap aktivitas virus *Newcastle desease* pada konsentrasi 1 µg / ml sebesar 50 % dan meningkat pada konsentrasi tinggi (gambar 1).



Gambar 1. Grafik data daya hambat ekstrak etanol daun bandotan terhadap virus *Newcastle Disease*

Dari tabel 1 dapat diketahui bahwa kontrol virus yang merupakan hasil dari inokulasi virus saja tanpa penambahan ekstrak mempunyai jumlah titer virus yang paling tinggi. Hal ini berarti virus yang ada dalam cairan

alantois dalam jumlah banyak. Sedangkan pada kelompok konsentrasi jumlah titer virus yang paling tinggi pada konsentrasi 1 µg/ml diikuti 10 µg/ml, dan 100 µg/ml.

Tabel 2. Persentase daya hambat ekstrak etanol daun bandotan terhadap virus *Newcastle Disease*

| Perlakuan | Persentase Daya hambat Ekstrak Etanol Daun Bandotan | | | Hambatan rerata=RSD |
|-----------------------|---|-----------|-----------|---------------------|
| | Replikasi | Replikasi | Replikasi | |
| | I | II | III | |
| Ekstrak 1 µg/ml (%) | 50,00 | 50,00 | 50,00 | 50,00±0 |
| Ekstrak 10 µg/ml (%) | 87,5 | 87,5 | 93,50 | 89,583±3,61 |
| Ekstrak 100 µg/ml (%) | 99,22 | 99,61 | 99,61 | 99,48±0,23 |

Hasil identifikasi golongan senyawa yang terkandung dalam ekstrak etanol daun bandotan menunjukkan adanya golongan senyawa flavonoid (tabel 3), triterpenoid (Tabel 4), minyak atsiri (tabel 5) dan saponin. Hal ini senada dengan laporan dari Warintek (2008) yang menyatakan bahwa bandotan memiliki kandungan flavonoid.

Flavonoid diidentifikasi dengan Fase diam selulosa, Fase gerak asam asetat 15 %, Pereaksi semprot sitroborat, Pembanding rutin, Positif warna kuning pada sinar tampak

(Harborne, 1987). Triterpenoid diidentifikasi dengan Fase diam silika gel F_{254} , Fase gerak heksana : etil asetat (1:1), Pereaksi semprot *Lieberman-Burchard*, Positif warna hijau-biru pada sinar tampak (Harborne, 1987). Minyak atsiri diidentifikasi dengan fase diam silika gel F_{254} , Fase gerak toluena : etil asetat (93 : 7), Pembanding eugenol, Pereaksi semprot vanilin-asam sulfat, Positif warna coklat jingga, positif eugenol (Depkes, 1987). Saponin diidentifikasi dengan uji busa yang tetap selama 10 menit (Harborne, 1987).

Tabel 3. Hasil identifikasi Flavonoid

| | hRf | Pada UV 366 nm sebelum disemprot sitraborat | Pada UV 366 nm setelah disemprot sitroborat | Hasil |
|---------|--------------|---|--|--------------------|
| Ekstrak | 22,5 42,5 | Kuning lemah Kuning lemah | Kuning lemah Kuning lemah | Positif Positif |
| Rutin | 52,5 | Kuning | Kuning | Positif |

Mekanisme kerja antivirus secara umum dalam menghambat pertumbuhan virus adalah sebagai berikut menghambat reproduksi dengan cara menghambat formasi salah satu protein inti sehingga DNA menjadi hancur, bereaksi dengan polimerase

RNA dan mengakibatkan penghambatan proses transkripsi, menghambat sintesis RNA yang bergantung pada DNA, menghambat sintesis DNA dengan cara bergabung dengan DNA dan menghambat DNA polimerase (Syahrurrahman, 1994)

Tabel 4. Hasil Identifikasi Triterpenoid

| hRf | | Sebelum disemprot | | pereaksi Lieberman – Burchard diamati pada sinar UV 366 nm | Hasil |
|---------|----|--------------------|--------------------|--|--------------------|
| | | Sinar UV 254 nm | Sinar UV 366 nm | | |
| Ekstrak | 21 | Pemadaman | Kuning | Hijau lemah | Positif steroid |
| Ekstrak | 67 | Pemadaman | Kuning | Hijau lemah | Positif steroid |

Flavonoid merupakan senyawa fenol alam yang banyak dijumpai dalam tanaman. Senyawa flavonoid sebagai antivirus mula – mula ditemukan pada senyawa quersetin yang berefek profilaktif apabila diberikan pada tikus putih yang berinfeksi intraserebral dengan berbagai jenis virus (Harborne, 1987). Menurut penelitian Orazov *et.al.* (2005), menunjukkan bahwa flavonoid dari golongan flavonol dan flavon mampu menginvasi partikel virus. Flavonoid merupakan senyawa kimia yang sangat berguna pada tumbuhan maupun pada manusia. Fungsi flavonoid yang lain adalah berperan pada pengaturan pertumbuhan, fotosintesis dan pertahanan bagi tumbuhan. Flavonoid pada kadar rendah akan menyebabkan denaturasi protein dan pada kadar tinggi menyebabkan koagulasi protein sehingga sel akan mati.

Virus *Newcastle Disease* merupakan genus dari famili Paramyxoviridae, yang mempunyai selubung (*peplos*) yang penuh dengan tonjolan – tonjolan (Syahrurachman, 1994), mempunyai besar kemungkinan adanya aktivitas antivirus dari ekstrak berupa inaktivasi virus oleh senyawa flavonoid yang berikatan dengan selubung yang dimiliki oleh virus *Newcastle Disease* sehingga menghalangi ikatan antara virus *Newcastle Disease* dengan reseptor pada sel target. Selain itu senyawa aktif flavonoid yang terkandung dalam ekstrak dapat menyebabkan denaturasi atau koagulasi protein sehingga sel hospes akan mati dan proses replikasi dari virus *Newcastle Disease* akan terhambat secara otomatis jumlah virus *Newcastle Disease* akan berkurang. Flavonoid dapat mencegah sel virus *Newcastle Disease*. Sedangkan mekanisme antivirus senyawa aktif lain

yaitu saponin, yang terkandung di dalam ekstrak daun bandotan (*A. conyzoides* L.) berfungsi untuk menstimulasi sel yang telah terinfeksi oleh virus dengan meningkatkan kekebalan pada sel inang dan menghalangi pembentukan kapsid virus di dalam sel inang sehingga virus hasil replikasi ini tidak sempurna yang dapat

berakibat pada rusaknya partikel virus itu sendiri.

Ekstrak etanol daun bandotan mempunyai aktivitas antivirus yang sangat besar dengan dosis yang kecil. Sehingga hanya dengan konsentrasi terkecil yaitu 1µg/ml, ekstrak etanol daun bandotan dapat menghambat pertumbuhan virus sebesar 50%, khususnya virus *Newcastle Disease*.

Tabel 5. Hasil Identifikasi minyak atsiri

| Ekstrak | hRf | Pada UV 254 nm sebelum disemprot | Pada UV 366 nm setelah disemprot | Hasil |
|---------|------|--|-------------------------------------|---------|
| Ekstrak | 71,2 | Coklat jingga | Violet kemerahan | Positif |
| Eugenol | 71,2 | Coklat jingga | Violet kemerahan | Positif |

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka diperoleh kesimpulan bahwa ekstrak etanol daun bandotan (*A. conyzoides* L.) mempunyai aktivitas antivirus terhadap virus *Newcastle Disease* yaitu konsentrasi 100µg/ml mampu menghambat pertumbuhan virus *Newcastle Disease* (ND) Golongan senyawa kimia yang terdapat pada ekstrak etanol daun bandotan adalah flavonoid, steroid, minyak atsiri, dan saponin.

Daftar Pustaka

- Achuwa, Siti Nur. 2006. *Uji Daya Antiviral Ekstrak Kloroform Daun Bandotan (Ageratum conyzoides Lour) terhadap Infeksi Virus Newcastle Disease (ND) pada telur Ayam Berembrio* [skripsi]. Surakarta : Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta. (<http://www.perpus@ums.ac.id>) [diakses pada tanggal 7 januari 2009].
- Cappuccino, J. D., and Natalie Sherman. 1983. *Microbiology A Laboratory Manual*. Sydney

- : Addison Wesley Pubishing Company.
- Dalimarta, S. 2000. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia Jilid II*. Jakarta : Trubus Agriwijaya, (<http://peternakan.litbang.deptan.go.id/?q=node/626>) [diakses pada tanggal 19 April 2009]
- Depkes RI,1987. *Materia Medika*. Jakarta : Depkes RI.
- Dewi, dkk. 2007. *Deteksi Virus avian Influenza Subtipe H5 pada Kucing jalanan (Felis silvestris catus) di Wilayah Kota Bandung*. Bandung: FKH Universitas Airlangga.
- Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia*. Diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata. Bandung : Penerbit ITB.
- Syahrurchman, A., dkk. 1994. *Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran Edisi Revisi*. Jakarta : Binapura Aksara.
- Wijayanti, Y. 2007. *Uji sitotoksitas Ekstrak Gubal daun Bandotan (A. conyzoides L.) terhadap Sel Myeloma[skripsi]*. Surakarta : Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta. (<http://www.perpus@ums.ac.id>) [diakses pada tanggal 7 Januari 2009].